西方蜜蜂 *Fdl* 基因的时空表达谱及蛋白分子特征*

曹瑞华[1**] 任亚萍[1**] 王芳吉[1] 雷建朋[1] 李婧娴[1] 周 彤[1]
吴 鹰[2] 陈大福[1, 3, 4] 郭 睿[1, 3, 4***] 邱剑丰[1, 3, 4***]

（1. 福建农林大学蜂学学院，福州 350002；2. 吉林省养蜂科学研究所，吉林 132000；
3. 天然生物毒素国家地方联合工程实验室，福州 350002；
4. 福建农林大学蜂疗研究所，福州 350002）

摘 要 **【目的】** 本研究旨在通过检测西方蜜蜂 *Apis mellifera* 的 *β-N*-乙酰己糖胺酶 4 基因（*AmFdl*）在工蜂不同组织和发育阶段中的表达谱，并解析其蛋白分子特征和保守功能域，为深入开展 *AmFdl* 的功能研究提供基础。**【方法】** 通过 RT-PCR 和琼脂糖凝胶电泳鉴定 *AmFdl* 在西方蜜蜂中表达；利用 RT-qPCR 检测 *AmFdl* 在西方蜜蜂不同组织和发育阶段的表达差异。通过生物学相关软件预测和分析 AmFDL 的理化性质、分子特征、保守基序和功能域，并构建系统进化树。**【结果】** *AmFdl* 在西方蜜蜂工蜂不同组织中差异表达，在咽下腺中的表达量最高，且显著高于脑、中肠、脂肪体、表皮和毒腺等组织（$P < 0.05$）。*AmFdl* 在工蜂卵中的表达量最高，其表达量随幼虫日龄增高而逐渐降低；*AmFdl* 在 2 日龄工蜂成虫中的表达水平最高，显著高于 1 日龄和 6 日龄（$P < 0.05$），其中在 6 日龄工蜂中的表达量最低。AmFDL 编码 717 个氨基酸，分子量约为 80.8 kD，平均亲水系数为 - 0.359，不含典型的信号肽。西方蜜蜂、东方蜜蜂 *Apis cerana*、无刺蜂 *Frieseomelitta varia*、熊蜂 *Bombus vosnesenskii* 和美洲东部熊蜂 *Bombus impatiens* 的 FDL 蛋白含有 2 个相同的结构，分别为 GH20_HexA_HexB_like 和 Glycohydro_20b2，AmFDL 还包含 5 个保守的序列。西方蜜蜂和东方蜜蜂的 FDL 蛋白在进化树上归为同一支。**【结论】** *AmFdl* 基因在西方蜜蜂工蜂的咽下腺和卵中特异性高量表达。AmFDL 是一种亲水性的非跨膜蛋白，具有保守的基序和功能域。

关键词 西方蜜蜂；*β-N*-乙酰己糖胺酶；时空表达谱

Spatiotemporal expression profile and molecular protein characteristics of the *Fdl* gene in *Apis mellifera*

CAO Rui-Hua[1**] REN Ya-Ping[1**] WANG Fang-Ji[1] LEI Jian-Peng[1] LI Jing-Xian[1]
ZHOU Tong[1] WU Ying[2] CHEN Da-Fu[1, 3, 4] GUO Rui[1, 3, 4***] QIU Jian-Feng[1, 3, 4***]

(1. College of Bee Science and Biomedicine, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Apiculture Science Institute of Jilin Province, Jilin 132000, China; 3. National & Local United Engineering Laboratory of Natural Biotoxin, Fuzhou 350002, China; 4. Apitherapy Research Institute of Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract **[Aim]** To investigate the expression profile of the *β-N*-acetylhexosaminidase 4 gene (*AmFdl*) in different tissues and developmental stages of *Apis mellifera* workers, and to characterize the molecular properties and conserved domains of its encoded protein, thereby providing a foundation for the further functional investigation of this gene. **[Methods]** The transcription of *AmFdl* was detected using RT-PCR followed by agarose gel electrophoresis, and its expression in various

*资助项目 Supported projects：国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目（CARS-44-KXJ7）；福建省自然科学基金面上项目（2025J01616）；福建农林大学硕士生导师团队项目（郭睿）；福建农林大学科技创新专项基金（KFb22060XA）；福建省大学生创新创业训练计划项目（S202410389057，S202410389069）

**共同第一作者 Co-first authors，E-mail：caoruihua0103@163.com；renyaping0525@163.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors，E-mail：ruiguo@fafu.edu.cn；jfqiu@fafu.edu.cn

收稿日期 Received：2025-04-27；接受日期 Accepted：2025-09-07

tissues and developmental stages was analyzed using RT-qPCR. The physicochemical properties, molecular features, conserved motifs and functional domains of *AmFdl* were predicted and analyzed using appropriate software, after which a phylogenetic tree was constructed. **[Results]** *AmFdl* was differentially expressed in different tissues. Highest expression was in the hypopharyngeal glands, which was significantly higher ($P < 0.05$) than that in the brain, midgut, fat body, cuticle and venom glands. With respect to eggs and larvae, expression was highest in worker bee eggs, and thereafter gradually decreased with larval age. With respect to worker bees, expression was highest in 2-day-old workers, significantly higher ($P < 0.05$) than that in 1-day-old or 6-day-old workers, and lowest in 6-day-old workers. *AmFdl* encodes 717 amino acids, has a molecular weight of about 80.8 kD, an average hydropathy index of - 0.359, and does not contain a typical signal peptide. The FDL proteins of the *Apis mellifera*, *Apis cerana*, *Frieseomelitta varia*, *Bombus vosnesenskii* and *Bombus impatiens*, all contain the same two structural domains, GH20_HexA_HexB_like and Glycohydro_20b2, and *AmFdl* also have five conserved motifs. The FDL proteins of *Apis mellifera* and *Apis cerana* cluster together on the evolutionary tree. **[Conclusion]** The *AmFdl* gene is predominantly expressed in the hypopharyngeal glands and eggs of *Apis mellifera* workers. AmFdl is a hydrophilic, non-transmembrane protein with conserved motifs and functional domains.

Key words *Apis mellifera*; *β-N*-acetylhexosaminidase; spatio-temporal expression profile

蜜蜂是自然界中不可或缺的授粉昆虫，在维持生态稳定性和保障粮食生产等方面具有举足轻重的作用（Lin *et al.*，2024）。西方蜜蜂 *Apis mellifera* 具有性情温顺、产卵力强和易维持大群等优点而广泛应用于世界各地的养蜂生产（曾志将，2017）。

糖基水解酶 20 家族的 *β-N*-乙酰己糖胺酶（*β-N*-acetylhexosaminidase，Hex）是 *N*-乙酰己糖胺代谢过程中的重要酶，广泛存在于脊椎动物、无脊椎动物、植物、细菌和真菌中，并且在多种重要的生理过程中发挥作用，例如生物体内几丁质的水解，蛋白质的 *N* 糖基化修饰以及精卵识别等（屈明博等，2014；Jiang and Yang，2023）。根据进化发育关系和生理功能，Hex 酶可分为四个主要进化亚家族，分别为 Hex1-Hex4。研究表明，细菌的 Hex 通过降解外源几丁质，用于合成自身的营养成分（霍亚敏，2013）。昆虫的 Hex4 又被称为 FDL，因在研究黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 胚胎后期大脑的发育过程中，Hex4 基因突变，会导致脑部的 2 个蕈形体发生融合（Fused lobe，FDL）的现象（Geisler *et al.*，2008）。*Fdl* 参与黑腹果蝇（Léonard *et al.*，2006）和家蚕 *Bombyx mori*（Nomura *et al.*，2010）的 *N*-乙酰己糖胺代谢过程中的糖基化修饰。在地中海实蝇 *Ceratitis capitata* 中，*CcFdl* 被证实存在于精子表面，暗示其在精卵识别过程中发挥功能（Intra *et al.*，2011）。

目前对昆虫 *Fdl* 的研究取得了一些进展（Dragosits *et al.*，2015），但关于西方蜜蜂中 *AmFdl* 的研究相对匮乏。本研究检测 *AmFdl* 在西方蜜蜂工蜂不同组织和发育阶段的表达模式，对 *AmFdl* 的分子特性和理化性质通过生物信息学分析方法进行预测和分析，为进一步开展 *AmFdl* 的功能研究提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 供试生物材料

西方蜜蜂来源福建农林大学蜂学与生物医药学院蜜蜂-病原互作机制研究团队的教学蜂场。

1.2 样品制备

按照本团队已建立的技术流程（吴鹰等，2023）制备工蜂的卵、幼虫和成虫样品。分别收集第 3 日龄（幼虫）、7 日龄（预蛹）、8 日龄（预蛹）和 12 日龄（蛹）工蜂（n=3）。

选取封盖子脾，放入恒温恒湿培养箱[（35±0.5）℃、相对湿度 70%]。新出房工蜂（n=15）参照张莉等（2022）的方法解剖西方蜜蜂的触角、毒腺、脑、中肠、脂肪体、表皮和咽下腺 7 个组织。另一部分新出房工蜂饲养在透明盒子里（n=30），分别收集第 1、2、6、12、15 和 18 日龄工蜂成虫（n=3）。设置 3 次生物学重复，样品经液氮速冻后保存于 - 80 ℃冰箱。

1.3　*AmFdl* 基因的 PCR 扩增

在 NCBI 数据库（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/）中下载 *AmFdl* 基因（GenBank 登录号：XM_006567427.3）的核苷酸序列，使用 Primer Premir 6 软件设计特异性扩增引物（表 1）。使用 RNA 提取试剂盒（艾科瑞，中国）提取样品的总 RNA，并将其反转录合成 cDNA，以此为模板进行 PCR 扩增。反应程序参照郭意龙等（2022）设置。扩增产物经 1.5%琼脂糖凝胶电泳分离后，于核酸凝胶成像仪（上海培清，中国）中进行观察并采集图像。

1.4　*AmFdl* 基因的时空表达谱检测

使用 Primer Premir 6 软件设计 *AmFdl* 和内参肌动蛋白基因 *actin*（GenBank 登录号：NM_001185145.1）的 qPCR 引物（表 1）。同 1.3 节制备的 cDNA 作为 qPCR 模板。qPCR 在 ABI QuantStudio 3 荧光定量 PCR 系统（ABI 公司，美国）上进行，反应体系与条件参照郭意龙等（2022）的方法设置。

表 1　本研究所用的引物序列

Table 1　Primer sequence used in this study

引物名称 Primer	序列（5′-3′） Sequence (5′-3′)	用途 Purpose
Amfdl-cds-F	ATGGTGGGCAACATGTCGAG	PCR
Amfdl-cds-R	ACCCGGGCAAATGTCTCTGA	
actin-F	CCTAGCACCATCCACCATGAA	RT-qPCR
actin-R	GAAGCAAGAATTGACCCACCAA	
Amfdl-F	TCGTCGTGAATGGATGAAT	
Amfdl-R	AATCGGTTACACAGGTCTC	

1.5　AmFDL 理化性质与分子特性分析

参照张凯遥等（2022）方法，基于 Expasy 平台（https://www.expasy.org/）的 ProtParam、ProtScale 和 SWISS-model 工具，预测 AmFDL 蛋白的理化性质、亲疏水性及三级结构进行。进一步使用 SignalP 4.1 Server、NetPhos 3.1 Server、TMHMM 和 SOPMA 在线工具，对该蛋白的信号肽、磷酸化位点、跨膜结构域及二级结构进行分析。此外，用 PSORT Ⅱ 软件预测 AmFDL 蛋白的亚细胞定位。所有分析均采用软件的默认参数。

1.6　AmFDL 蛋白的保守基序和功能结构域分析

利用 Blast 的 CD-search 工具（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi）将西方蜜蜂 AmFDL 氨基酸序列比对蛋白质数据库，获得序列相似性较高的其他物种的 FDL。使用 MEME 软件（Bailey and Elkan，1994）对西方蜜蜂及其他物种 FDL 蛋白的保守基序进行预测，参数设置如下：基序最大宽度和最小宽度分别为 50 和 6 aa，预测基序数目设为 5。通过 Pfam 数据库（http://pfam.xfam.org/）在线检索获得 AmFDL 蛋白的结构域信息，并基于该结果，采用 TBtools 软件对西方蜜蜂及其他物种 FDL 蛋白的结构域组成进行比较分析，相关操作均使用软件默认参数。

1.7　系统进化分析

参考宋宇轩等（2024）方法，使用 Mega 11.0 软件比对蛋白氨基酸序列，进化树取用邻接法（Neighbor-joining method）构建。默认重复数设为 5 次，以美洲东部熊蜂 *Bombus impatiens* 作为外群进行树的根系分析。

1.8　数据处理

采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 *AmFdl* 基因的相对表达量。利用 GraphPad Prism 8 软件进行图表绘制，并通过 SPSS Statistics 20 软件进行正态性检验（$P > 0.05$ 视为符合正态分布）；进一步使用单因素方差分析（One-way ANOVA），采用 Tukey 氏检验进行多重比较，并以字母标记法表示显著性差异（$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义）。

2　结果与分析

2.1　*AmFdl* 的分子验证

琼脂糖凝胶电泳结果显示，PCR 扩增出 *AmFdl* 基因编码区序列（Coding sequence，CDS）约 250 bp 的目的片段，说明 *AmFdl* 基因在西方蜜蜂中

真实存在和表达（图 1）。

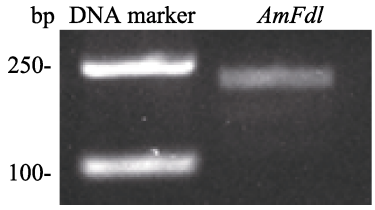


图 1 *AmFdl* 基因扩增产物的琼脂凝胶电泳

Fig. 1 Agar gel electrophoresis of *AmFdl* gene amplification products

2.2 西方蜜蜂工蜂不同组织中 *AmFdl* 的相对表达量

RT-qPCR 结果显示，*AmFdl* 在工蜂成蜂所取组织样本中均有差异性表达。*AmFdl* 在咽下腺中的表达量最高，且显著高于其它组织中的表达量（$P < 0.05$）；相比于触角中的表达量，*AmFdl* 在其余组织中的表达量显著降低（$P < 0.05$），在中肠的表达量最低（图 2）。

2.3 西方蜜蜂工蜂不同发育时期 *AmFdl* 的相对表达量

AmFdl 在西方蜜蜂工蜂早期发育阶段中呈现差异表达模式。其表达水平随发育进程推进逐渐下调，在卵中表达量最高，显著高于 3 日龄幼虫、7 日龄与 8 日龄预蛹以及 12 日龄蛹（$P < 0.05$）；至蛹期时表达量降至最低（图 3：A）。

在成虫阶段，*AmFdl* 在 1、2、6、12、15 及 18 日龄工蜂中均检测到表达，但表达水平存在显著差异。其中，2 日龄成虫中的表达量最高；6 日龄在成虫中表达量最低（图 3：B）。

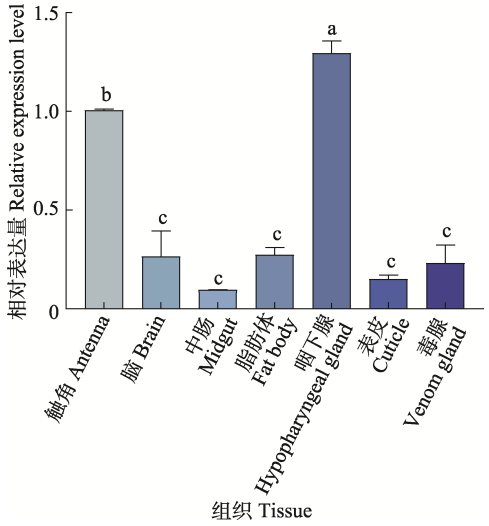


图 2 西方蜜蜂工蜂不同组织中 *AmFdl* 的相对表达量

Fig. 2 Relative expression level of *AmFdl* in various tissue of *Apis mellifera* worker

图中数据为平均值+标准误。柱上不同字母表示差异显著（$P < 0.05$，Tukey 氏检验）。下图同。

Date in the figure are mean+SD. Different letters above bars indicate significant difference ($P < 0.05$, Tukey's test). The same below.

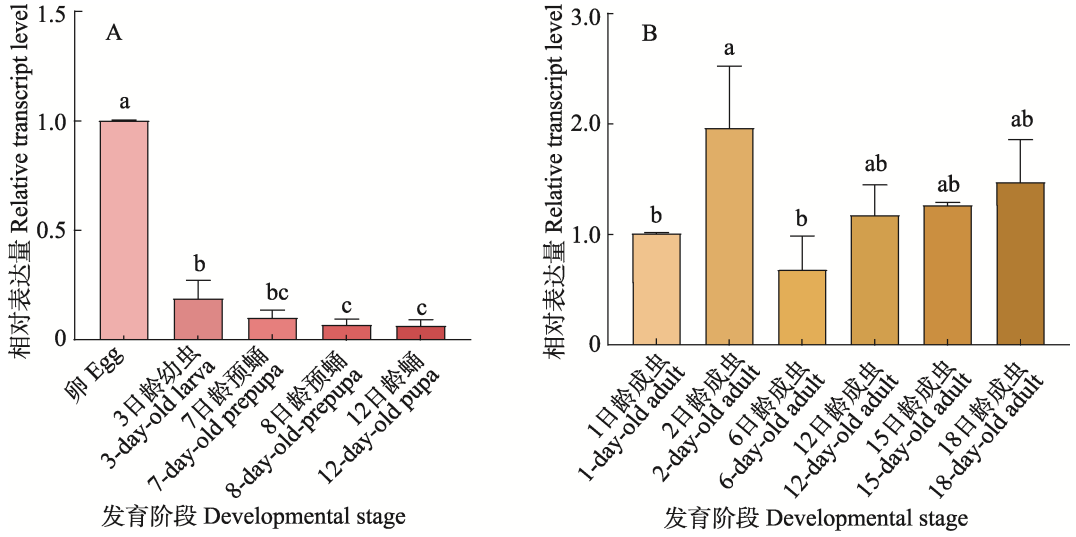


图 3 西方蜜蜂工蜂不同发育阶段 *AmFdl* 的相对表达量

Fig. 3 Relative expression level of *AmFdl* gene in different developmental stages of *Apis mellifera* worker

A. 羽化前发育阶段；B. 成虫发育阶段。A. Pre-feathering developmental stages; B. Adult developmental stages.

2.4　AmFDL 的理化性质和分子特性

AmFdl 基因的编码序列 CDS 区全长 2 154 bp，编码 1 个由 717 个氨基酸残基组成的蛋白质 AmFDL。该蛋白质的预测分子量为 80.8 kD，分子式为 $C_{3597}H_{5546}N_{1022}O_{1050}S_{29}$。其理论等电点（pI）为 7.26，脂溶系数为 78.24。氨基酸组成分析显示，AmFDL 中含有 78 个带负电的残基（Asp 和 Glu）和 78 个带正电的残基（Arg、Lys 和 His）。该蛋白的平均亲水性系数（GRAVY）为 - 0.359，证实了其亲水属性，且亲水氨基酸数量多于疏水氨基酸（图 4：A）。同时，信号肽预测结果（图 4：B）显示该蛋白无典型信号肽，据此推测 AmFDL 属于非分泌性蛋白。此外，在 AmFDL 中共预测到 13 个酪氨酸磷酸化位点、31 个苏氨酸磷酸化位点及 40 个丝氨酸磷酸化位点（图 4：C）。二级结构以无规卷曲为主（51.74%），其次为 α-螺旋（32.50%）和 β-折叠（15.76%）（图 4：D）。基于同源建模，AmFDL 与模板蛋白 3s6t.1.A 的序列一致性为 38.61%（图 4：E）。亚细胞定位预测结果表明，AmFDL 可能同时定位于多个细胞区室：线粒体（43.50%）、细胞质（21.70%）、细胞核（17.40%）、高尔基体（8.70%）、内质网（4.30%）及液泡（4.30%）。

2.5　AmFDL 蛋白的保守结构域和保守基序分析

在西方蜜蜂 *Apis mellifera*、东方蜜蜂 *Apis cerana*、无刺蜂 *Frieseomelitta varia*、熊蜂 *Bombus vosnesenskii* 和美洲东部熊蜂 *Bombus impatiens* 的 FDL 蛋白中鉴定到 GH20_HexA_HexB_like 和 Glycohydro_20b2 两个保守结构域。在黑大蜜蜂 *Apis laboriosa* 和小蜜蜂 *Apis florea* 的 FDL 蛋白中鉴定到 GH20_HexA_HexB_like 和 Glyco_hydro_20b superfamily 两个保守结构域。在大蜜蜂 *Apis dorsata* 的 FDL 蛋白中鉴定到 Glyco_hydro_20b superfamily 和 GH20_hexsaminidase superfamily 两个保守结构域（图 5）。

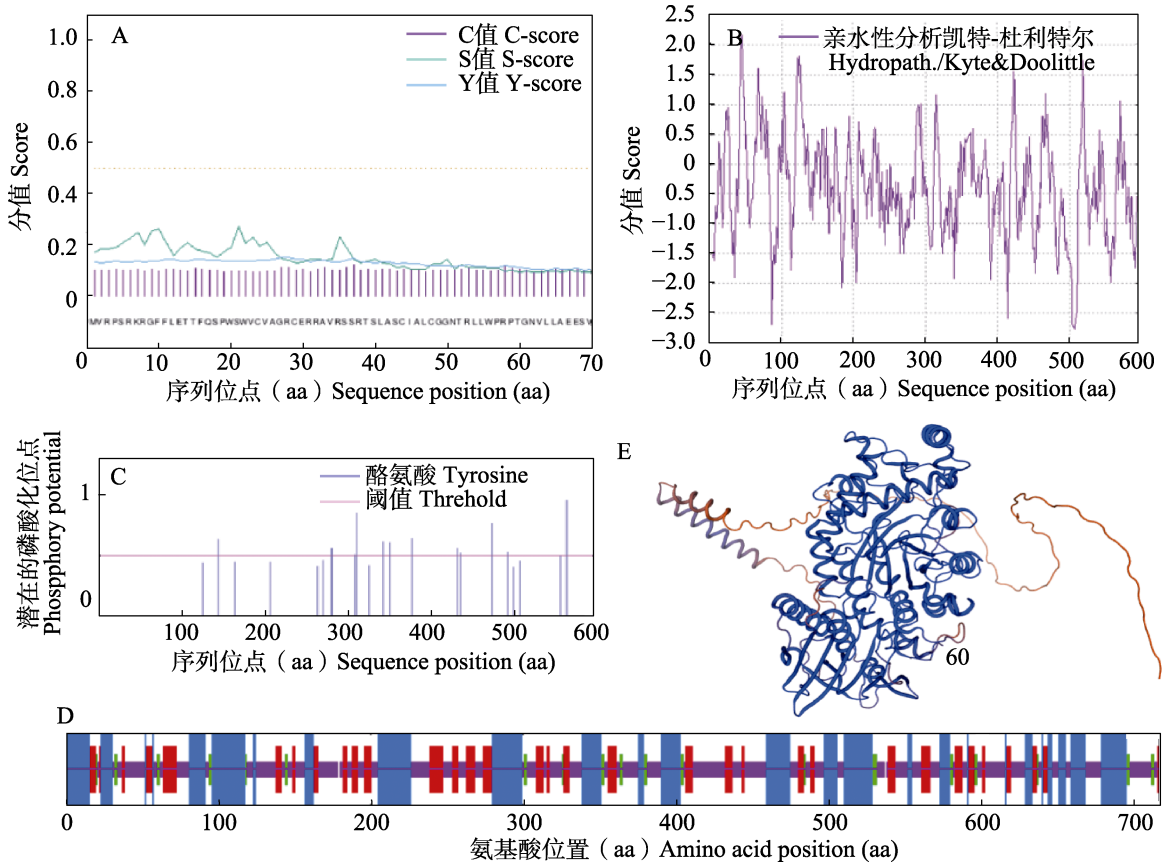


图 4　AmFDL 的亲水性（A）、信号肽（B）、磷酸化位点（C）、二级结构（D）和三级结构（E）

Fig. 4　Hydrophilia (A), signal peptide (B), phosphorylation site (C), secondary structure (D) and tertiary structure (E) of AmFDL

在 AmFDL 蛋白中，预测到 Motif 1-Motif 5 共 5 个保守基序。在黑大蜜蜂、大蜜蜂、东方蜜蜂、小蜜蜂、无刺蜂和美洲东部熊蜂的 FDL 中同样预测到了相同的 5 个保守基序，熊蜂仅有 Motif 1 和 Motif 3 基序（图 6）。

2.6 AmFDL 蛋白的系统进化分析

如表 2 所示，西方蜜蜂中含有 11 个 FDL、黑大蜜蜂中含有 5 个 FDL、大蜜蜂中含有 2 个 FDL、东方蜜蜂中含有 7 个 FDL、小蜜蜂中含有 7 个 FDL、无刺蜂中含有 2 个 FDL、熊蜂中含有 4 个 FDL、美洲东部熊蜂中含有 4 个 FDL。西方蜜蜂和中华蜜蜂的 FDL 聚为一小支，亲缘关系最近。该支进一步与黑大蜜蜂、大蜜蜂和小蜜蜂的 FDL 聚为一个大支。无刺蜂和美洲东部熊蜂的 FDL 聚为一小支，熊蜂单独聚为一支（图 7）。

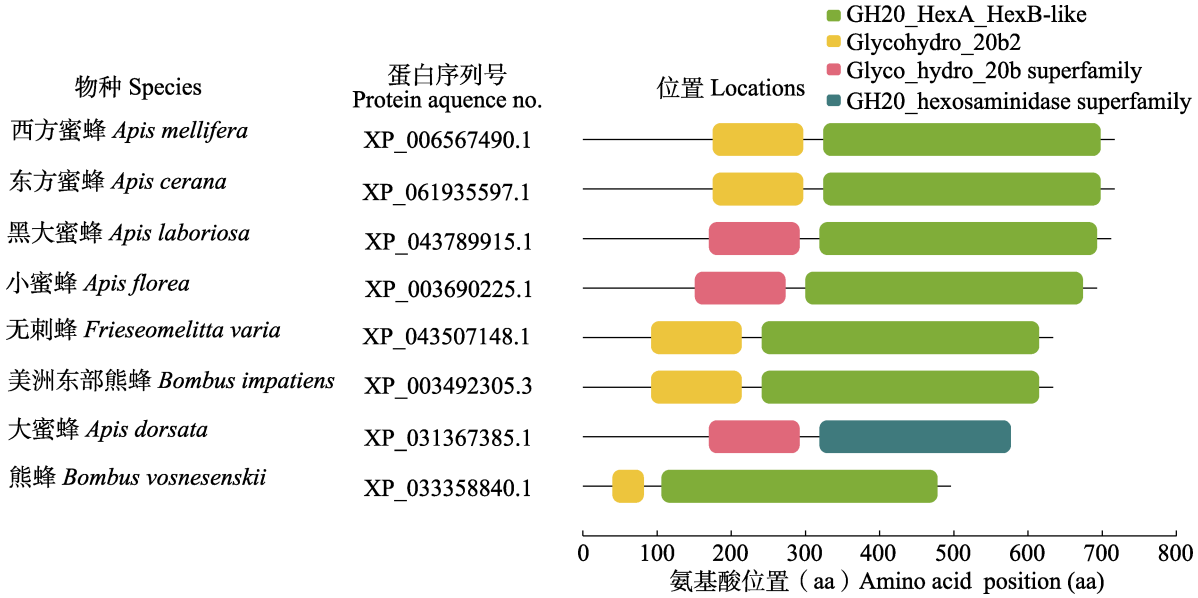


图 5 西方蜜蜂和其他 7 个物种的 FDL 蛋白所含的保守结构域比较

Fig. 5 Comparison of conserved structural domains in FDL proteins between *Apis mellifera* and other seven species

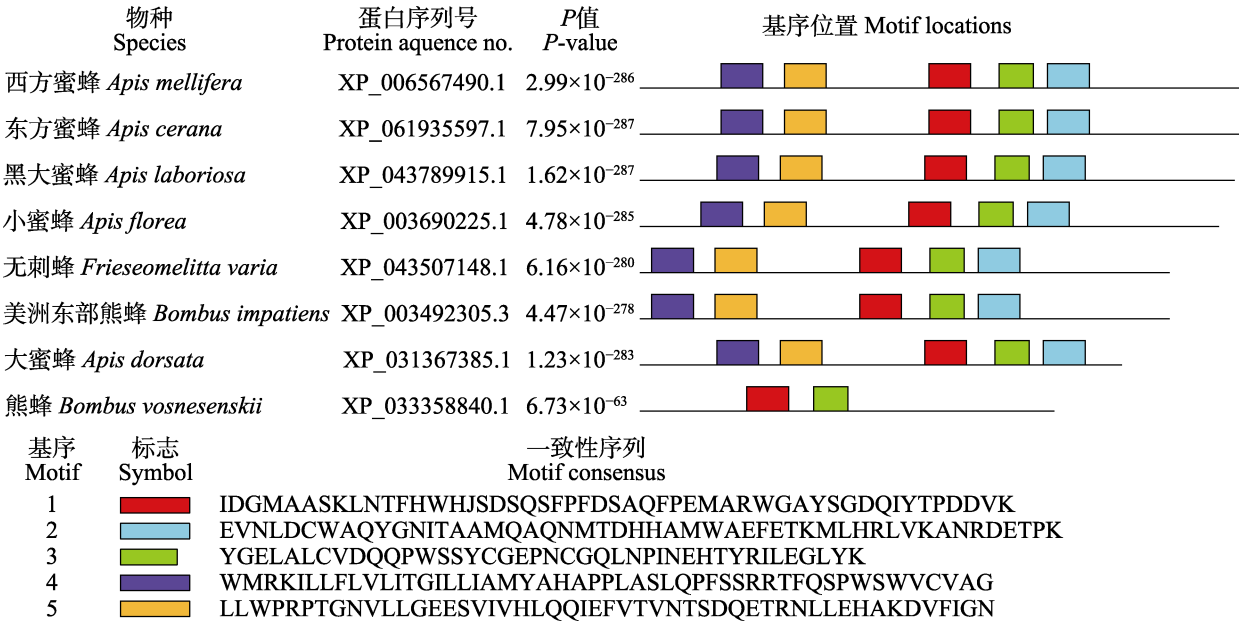


图 6 西方蜜蜂和其他 7 个物种的 FDL 含有保守基序

Fig. 6 Comparative analysis revealed conserved motifs in the FDL proteins of *Apis mellifera* and seven other species

表 2　西方蜜蜂和其他 7 个物种的 FDL 概要

Table 2　Summary of FDL in *Apis mellifera* and other seven species

物种 Species	数量 Number	NCBI GenBank 数据库收录号 Accession number in NCBI GenBank database
西方蜜蜂 *Apis mellifera*	11	LOC411490
黑大蜜蜂 *Apis laboriosa*	5	LOC122713481
大蜜蜂 *Apis dorsata*	2	LOC102675172
东方蜜蜂 *Apis cerana*	7	LOC107997776
小蜜蜂 *Apis florea*	7	LOC100871801
无刺蜂 *Frieseomelitta varia*	2	LOC122527224
熊蜂 *Bombus vosneseskii*	4	LOC117233990
美洲东部熊蜂 *Bombus impatiens*	4	LOC100740428

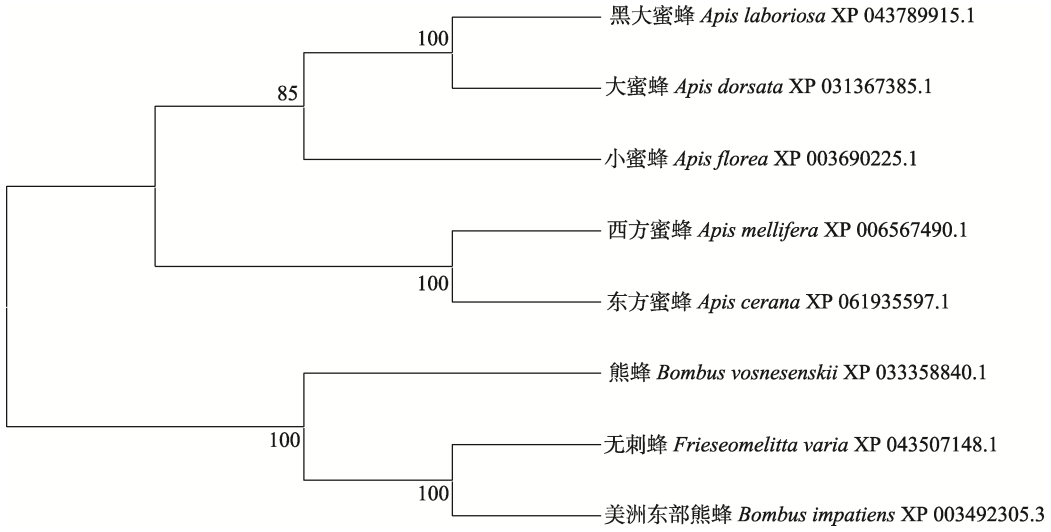


图 7　邻接法构建基于 FDL 的西方蜜蜂与其他 7 个物种的系统进化树

Fig. 7　Phelogenetic tree of *Apis mellifera* and other seven species based on FDL by neighbor-joining method

3　讨论

编码*β*-*N*-乙酰己糖酶的Hex基因在哺乳动物、昆虫和植物中都有发现(Gutternigg *et al.*, 2007)。在黑腹果蝇中,首次发现 Hex 基因在昆虫体内的表达，其被确定为参与精子/卵子识别的分子（ Cattaneo *et al.*, 2006)。昆虫的 Hex4 又被称为 FDL,参与昆虫 *N*-乙酰己糖胺代谢途径中的糖基化修饰(Léonard *et al.*, 2006; Nomura *et al.*, 2010)。西方蜜蜂中 *AmFdl* 的研究相对匮乏，本研究通过分析 *AmFdl* 基因在西方蜜蜂工蜂多种组织及不同发育时期的表达水平，旨在揭示其表达谱特征及潜在调控功能，并通过生物信息学分析方法对 *AmFdl* 的分子特性和理化性质进行预测和分析，为进一步展开 *AmFdl* 的功能研究提供基础数据。

本研究发现 *AmFdl* 基因在西方蜜蜂中真实表达（图 1），*AmFdl* 在西方蜜蜂工蜂的咽下腺中表达水平最高，触角中的表达次之（图 2)。推测 *AmFdl* 可能在西方蜜蜂工蜂的咽下腺中对蜜蜂的营养和级型分化，以及触角的化学感知等方面发挥潜在调控作用。研究显示黑腹果蝇 *DmFdl* 在睾丸和大脑中表达量较高，在其他部位表达量较低,在中肠和卵巢中几乎无法检测到(Cattaneo *et al.*, 2006)。地中海实蝇 *CcFdl* 基因在睾丸中

表达(Pasini *et al.*, 2011)。在亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 中，*ofFdl* 基因在蛹和成虫期的转录水平存在显著的性别差异，雄性个体中的表达量显著高于雌性。根据上述结果推测，*Fdl* 基因可能在昆虫雄性生殖生理中发挥重要功能，尤其可能参与精卵识别及精子发生过程的调控。*AmFdl* 在西方蜜蜂工蜂不同发育阶段的表达分析显示，其在卵中的表达水平最高，从卵至蛹期表达量呈逐渐下调趋势，表明该基因可能在卵期发育过程中发挥重要功能，但其具体调控机制尚待深入研究。至成虫阶段，*AmFdl* 在 2 日龄成虫中表达量最高。从 6 日龄开始，随着日龄增长，该基因的表达呈现上升趋势（图 3)。结合蜜蜂社会性行为特点，低日龄工蜂通常主要从事巢内哺育幼虫及清理巢房等职责（黄少康，2011），因此推测 *AmFdl* 可能参与调控西方蜜蜂幼龄工蜂的巢内行为活动。

生物信息学分析发现 AmFDL 含有 717 个氨基酸，脂溶系数为 78.24，理论等电点为 7.26，该蛋白所含酸性氨基酸与碱性氨基酸的数量均为 78 个。平均亲水系数为 - 0.359（图 4：A），且未预测到典型的信号肽序列（图 4：B），上述理化特征表明，AmFDL 可能是一种亲水性蛋白，并以非分泌方式存在于胞内。以上结果解析了西方蜜蜂工蜂 AmFDL 的分子特性并丰富了相关信息。本研究表明在意大利蜜蜂、东方蜜蜂、无刺蜂、熊蜂和美洲东部熊蜂的 FDL 蛋白中鉴定到 2 个保守结构域：GH20_HexA_HexB_like 和 Glycohydro_20b2(图 5)。在昆虫中，Glycohydro_20b2 的结构域高度保守。Glycohydro_20b2 代表真核生物 *β*-*N*-乙酰葡糖胺酶的 *N* 末端结构域，也是其功能域（Xi *et al.*，2024)。在西方蜜蜂和其他 6 种昆虫的 FDL 中均鉴定到 4 个保守基序，熊蜂仅有 2 个保守基序（图 6)。西方蜜蜂与东方蜜蜂的 FDL 亲缘关系最为接近（图 7)。以上结果共同表明，AmFDL 在上述西方蜜蜂工蜂幼虫中具有较高的保守性，并可能在发育过程中发挥相似的生物学功能。

研究表明 Hex 是一种可溶性糖水解酶，参与溶酶体中的糖缀合物降解（Magini *et al.*，2008)，Hex 还经常被用于对过敏反应的初步评估（Lv *et al.*，2018)。目前，FDL 在昆虫中的研究较少，还需要进一步明确它的功能。未来的研究可进一步探讨 *Fdl* 在西方蜜蜂咽下腺中的分布特征，对蜜蜂的营养和级型分化、工蜂卵期的发育的调控机制。其也可能影响蜜蜂蜂王浆的分泌和蜂王浆的产量，在高产蜂王浆的品种选育方面有提示作用。

参考文献 (References)

Bailey TL, Elkan C, 1994. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers. Proceedings of the International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology. Berlin: 28–36.

Cattaneo F, Pasini ME, Intra J, Matsumoto M, Briani F, Hoshi M, Perotti ME, 2006. Identification and expression analysis of *Drosophila melanogaster* genes encoding beta-hexosaminidases of the sperm plasma membrane. *Glycobiology*, 16(9): 786–800.

Dragosits M, Yan S, Razzazi-Fazeli E, Wilson IB, Rendic D, 2015. Enzymatic properties and subtle differences in the substrate specificity of phylogenetically distinct invertebrate N-glycan processing hexosaminidases. *Glycobiology*, 25(4): 448–464.

Geisler C, Aumiller JJ, Jarvis DL, 2008. A fused lobes gene encodes the processing beta-*N*-acetylglucosaminidase in Sf9 cells. *Journal of Biological Chemistry*, 283(17): 11330–11339.

Gutternigg M, Kretschmer-Lubich D, Paschinger K, Rendić D, Hader J, Geier P, Ranftl R, Jantsch V, Lochnit G, Wilson IB, 2007. Biosynthesis of truncated N-linked oligosaccharides results from non-orthologous hexosaminidase-mediated mechanisms in nematodes, plants, and insects. *Journal of Biological Chemistry*, 282(38): 27825–27840.

Guo YL, Yu KJ, Zhao X, Qian JJ, Zhao HD, Zhang J, Zhang Y, Zhao HX, Xu XJ, Luo Q, Chen DF, Guo R, 2022. Bioinformatic analysis and functional study of *nkd* gene in larvae of *Apis mellifera ligustica* workers. *Acta Microbiologica Sinica*, 62(12): 5005–5017. [郭意龙, 余岢骏, 赵萧, 钱加珺, 赵浩东, 张婕, 张扬, 赵红霞, 徐细建, 骆群, 陈大福, 郭睿, 2022. 意大利蜜蜂工蜂幼虫 *nkd* 基因的生物信息学分析及功能研究. 微生物学报, 62(12): 5005–5017.]

Huang SK, 2011. Bee Physiology. Beijing: China Agriculture Press. 168–169. [黄少康, 2011. 蜜蜂生理学. 北京: 中国农业出版社. 168–169.]

Huo YM, 2013. Recombinant expression and biochemical

characterization of the β-N-acetylhexosaminidase FDL from the insect *Ostrinia furnacalis*. Master dissertation. Dalian: Dalian University of Technology. [霍亚敏, 2013. 亚洲玉米螟 β-N-乙酰己糖胺酶FDL的克隆表达与生化性质表征. 硕士学位论文. 大连: 大连理工大学.]

Intra J, De Caro D, Perotti ME, Pasini ME, 2011. Glycosidases in the plasma membrane of *Ceratitis capitata* spermatozoa. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41(2): 90–100.

Jiang X, Yang Q, 2023. Recent advances in glycoside hydrolase family 20 and 84 inhibitors: Structures, inhibitory mechanisms and biological activities. *Bioorganic Chemistry*, 142: 106870.

Léonard R, Rendic D, Rabouille C, Wilson IB, Préat T, Altmann F, 2006. The Drosophila fused lobes gene encodes an N-acetylglucosaminidase involved in N-glycan processing. *Journal of Biological Chemistry*, 281(8): 4867–4875.

Lin Z, Shen S, Wang K, Ji T, 2024. Biotic and abiotic stresses on honeybee health. *Integrative Zoology*, 19(3): 442–457.

Lv Y, Fu J, Jia Q, Che D, Lin Y, Han S, He L, 2018. Accurate quantification of β-hexosaminidase released from laboratory of allergic diseases 2 cells via liquid chromatography tandem mass spectrometry method. *Journal of Chromatography A*, 1578: 106–111.

Magini A, Mencarelli S, Tancini B, Ciccarone V, Urbanelli L, Hasilik A, Emiliani C, 2008. Identification and characterization of mature beta-hexosaminidases associated with human placenta lysosomal membrane. *Bioscience Reports*, 28(4): 229–237.

Nomura T, Ikeda M, Ishiyama S, Mita K, Tamura T, Okada T, Fujiyama K, Usami A, 2010. Cloning and characterization of a β-N-acetylglucosaminidase (BmFDL) from silkworm *Bombyx mori*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(4): 386– 391.

Pasini ME, Intra J, Gomulski LM, Calvenzani V, Petroni K, Briani F, Perotti ME, 2011. Identification and expression profiling of *Ceratitis capitata* genes coding for β-hexosaminidases. *Gene*, 473(1): 44–56.

Qu MB, Liu T, Chen L, Chen Q, Yang Q, 2014. Research progresses in insect glycosyl hydrolyase family 20 β-N-acetylhexosaminidase. *Scientia Agricultura Sinica*, 47(7): 1303–1312. [屈明博, 刘田, 陈磊, 陈琦, 杨青, 2014. 昆虫糖基水解酶20家族β-N-乙酰己糖胺酶研究进展. 中国农业科学, 47(7): 1303–1312.]

Song YX, Dong SN, Ye DY, Zang H, Fan XX, Qiu JF, Chen DF, Yan TZ, Guo R, 2024. Investigation of bioinformatics and expression pattern of synaptic vesicle glycoprotein 2B gene in *Apis cerana*. *Journal of Environmental Entomology*, 47(6): 1871–1879. [宋宇轩, 董舒楠, 叶道有, 臧贺, 范小雪, 邱剑丰, 陈大福, 严提珍, 郭睿, 2024. 东方蜜蜂突触囊泡糖蛋白2B基因的生物信息学和表达模式分析. 环境昆虫学报, 47(6): 1871–1879.]

Wu Y, Liu ZT, Zhao HD, Guo SJ, Liu XY, Zhang YQ, Feng PL, Zhao HX, Xu XJ, Chen DF, Fu ZM, Guo R, 2023. Gene cloning, polyclonal antibody preparation, and expression pattern of m^6A methytransferase in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomologica Sinica*, 66(7): 885–895. [吴鹰, 刘治滩, 赵浩东, 郭思佳, 刘小玉, 张艺琼, 冯佩林, 赵红霞, 徐细建, 陈大福, 付中民, 郭睿, 2023. 西方蜜蜂 m^6A 甲基转移酶的基因克隆、多克隆抗体制备及表达模式. 昆虫学报, 66(7): 885–895.]

Xi Jiang, Qing Yang, 2024. Recent advances in glycoside hydrolase family 20 and 84 inhibitors: Structures, inhibitory mechanisms and biological activities. *Bioorganic Chemistry*, 142: 106870.

Zeng ZJ, 2017. Apiculture (The Third Edition). Beijing: China Agriculture Press. 10–12. [曾志将, 2017. 养蜂学(第三版). 北京: 中国农业出版社. 10–12.]

Zhang L, Zhang N, Jiang HQ, Wu F, Li HL, 2022. Molecular cloning and expression pattern analysis of NPC2 gene family of *Apis cerana cerana*. *Scientia Agricultura Sinica*, 55(12): 2461–2471. [张莉, 张楠, 江虎强, 吴帆, 李红亮, 2022. 中华蜜蜂NPC2基因家族克隆及表达模式分析. 中国农业科学, 55(12): 2461–2471.]

Zhang KY, Zhao HD, Zhang YQ, Zhao X, Gao XZ, Zou PY, Zhang KH, Chen DF, Guo R, Niu QS, 2024. Study on bioinformatics and expression pattern of nce-miR-11248 and target gene SGT1 in *Nosema ceranae*. *Journal of Northwest A&F University* (*Natural Science Edition*), 52(2): 32–39. [张凯遥, 赵浩东, 张艺琼, 赵萧, 高旭泽, 邹培缘, 张奎昊, 陈大福, 郭睿, 牛庆生, 2024. 东方蜜蜂微孢子虫 nce-miR-11248 及其靶基因 SGT1 的生物信息学和表达谱研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 52(2): 32–39.]